ÉTUDE DE LA MYCOFLORE DES RACINES DE MARCOTTES DE POMMIER CULTIVÉES SUR BROUILLARD NUTRITIF

par A. BRETON & F. ZANETTE*

RÉSUMÉ. — La mycoflore du système racinaire issu de marcottes de pommier cultivées sur brouillard nutritif comporte des saprophytes et des parasites d'équilibre appartenant notamment aux genres *Cylindrocarpon*, *Fusarium*, *Phoma* et *Pythium*. A la faveur d'un déséquilibre physiologique des marcottes, ces organismes peuvent intervenir dans la décomposition d'une première vague de racines néoformées à laquelle fait suite une seconde vague de racines résistantes.

SUMMARY. — On the roots born of apple-tree's layers cultivated in a nutrient spray fungi grow, which are composed of saprophytes and weak parasites, specially *Cylindrocarpon*, *Fusarium*, *Phoma* and *Pythium*. When a lack of balance appears in the physiological conditions of layers, these fungi may have a part in the rot of the first new roots, followed by a second and resistant roots production.

INTRODUCTION

Par rhizosphère *sensu lato*, le microbiologiste du sol désigne l'ensemble des microhabitats situés à l'interface sol-racine où les interactions entre les micro-organismes saprophytes du sol et la plante présentent l'intensité maximale (DOMMERGUES, 1975). Cette rhizosphère comprend trois zones :

- La rhizosphère *sensu stricto*, zone tellurique d'influence des racines dans laquelle diffusent les exsudats issus de la plante.
- Le rhizoplan, zone constituée par la surface des racines et le mucigel.
- L'endorhizosphère constituée par les cellules du cortex racinaire envahies par les micro-organismes saprophytes.

* Laboratoire de Biologie et Physiologie végétales, 4 rue Ledru, 63000 Clermont-Ferrand.

CRYPTOGAMIE, MYCOLOGIE *(Cryptog., Mycol.)*, TOME 3 (1982).

Cette notion de rhizosphère s'applique non seulement aux racines des plantes vivant sur des sols exondés mais aussi au système racinaire des végétaux aquatiques. En milieu artificiel sans sol, c'est-à-dire culture de végétaux sur brouillard nutritif en caissons (LAMOND, 1977), le concept de rhizosphère diffère de ce qu'il est en milieu naturel. En caisson, la rhizosphère *sensu stricto*, en tant que zone d'influence des exsudats racinaires sur une micropopulation, n'existe pas; elle fait place à un brouillard nutritif. En revanche le rhizoplan et l'endorhizosphère conservent leur structure et peuvent dans leurs relations avec les micro-organismes être étudiés semble-t-il plus facilement.

Mettant à profit des recherches sur la physiologie du développement de marcottes de pommier en culture sur brouillard nutritif, nous avons entrepris une étude de la population fongique présente sur les racines de ces végétaux qui sont toutes engendrées à l'intérieur des caissons à brouillard.

Après ablation de toutes les racines formées dans le sol, la rhizogenèse des marcottes mises en culture sur brouillard nutritif se manifeste après 6 à 15 jours suivant les conditions de température auxquelles elles sont soumises. 80 % des racines néoformées apparaissent en un laps de temps de 4 à 8 jours, sans augmentation ensuite de leur nombre pendant un temps relativement long. Quelles que soient les conditions expérimentales, l'état des bourgeons, l'époque de l'expérience, cette première vague de racines est particulièrement fragile : elle peut se décomposer entièrement, même si les racines ont atteint 10 à 15 centimètres de long; elle peut aussi survivre après être passée par une période critique. A cette crise succède la formation d'une deuxième vague de racines qui constituent le système racinaire définitif de la marcotte (ZANETTE, 1981).

Il apparaît donc intéressant d'une part de comparer la mycoflore des racines néoformées par les marcottes cultivées sur brouillard avec la population fongique du milieu naturel, d'autre part de rechercher les différences pouvant exister entre la mycoflore des racines saines et celle des racines de la première vague de rhizogenèse atteintes de pourriture brune afin d'expliquer ce phénomène.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. — Les marcottes.

Nous avons utilisé des marcottes de porte-greffes de pommier (virus-testés) provenant des pépinières Georges DELBARD à Commentry (Allier) et de la station de recherches de l'INRA à Angers (Maine-et-Loire) d'un diamètre de 6 à 8 mm. Au départ des expériences les marcottes ont été coupées de façon à conserver les 25 cm de la base, lavées à l'eau courante et débarrassées de toutes les racines en les coupant à 0,5 cm de la tige, pour mieux identifier les néoformations.

Les marcottes ont été ensuite installées sur les caissons en ayant 15 cm à

l'intérieur et 10 dehors. Il s'agit de fournir au système racinaire des marcottes, sous forme d'aérosol, l'eau et les sels minéraux nécessaires à la croissance et au développement de la plante, à l'intérieur d'un caisson obscur, aux parois imperméables, dans lequel on maintient une atmosphère saturée d'humidité par pulvérisation sporadique d'une solution nutritive à l'aide d'un «defensor 505».

La composition de la solution nutritive utilisée est la suivante : eau désionisée (1000 ml), NaCl (5 mg), $MgSO_4$, $7H_2O$ (135 mg), $(NH_4)_2$ SO_4 (36,25 mg), $Ca(NO_3)_2$ (172,5 mg), KNO_3 (101 mg), HK_2PO_4 (44 mg), H_2KPO_4 (660 mg), $MnSO_4$, 1 H_2O (0,616 ppm), Zn SO_4, 7 H_2O (0,882 ppm), H_3Bo_3 (0,564 ppm), $CuSO_4$, 5 H_2O (0,196 ppm), MoO_4 $(NH_4)_2$ (0,1 ppm), masquolate de fer DTPA (0,2 ml). La solution est à pH 6,4.

Les caissons sont installés en chambres climatisées, en conditions contrôlées : température de 25°C, humidité relative de 80 %, éclairement quotidien de 16 h assuré au moyen de tubes fluorescents 65 W lumière jour de luxe, et de lampes à incandescence ordinaire 15 W alimentées en 220 volts. L'intensité dispersée au niveau des plantes est en moyenne de $3,65 \times 10^4$ $ergs/cm^2/s$.

2. — Isolement des champignons

Les racines à étudier, saines ou en voie de décomposition selon le cas, sont prélevées stérilement sur la plante et coupées en tronçons de 3 mm de long. Chaque fragment est ensuite déposé au centre d'une boîte de Pétri renfermant un milieu à 10 g/l de malt, gélosé à 1,5 % et additionné, après stérilisation à 120°C, de 100 mg/l de streptomycine-sulfate destinée à limiter le développement des bactéries. Les cultures sont portées à 22°C.

RÉSULTATS

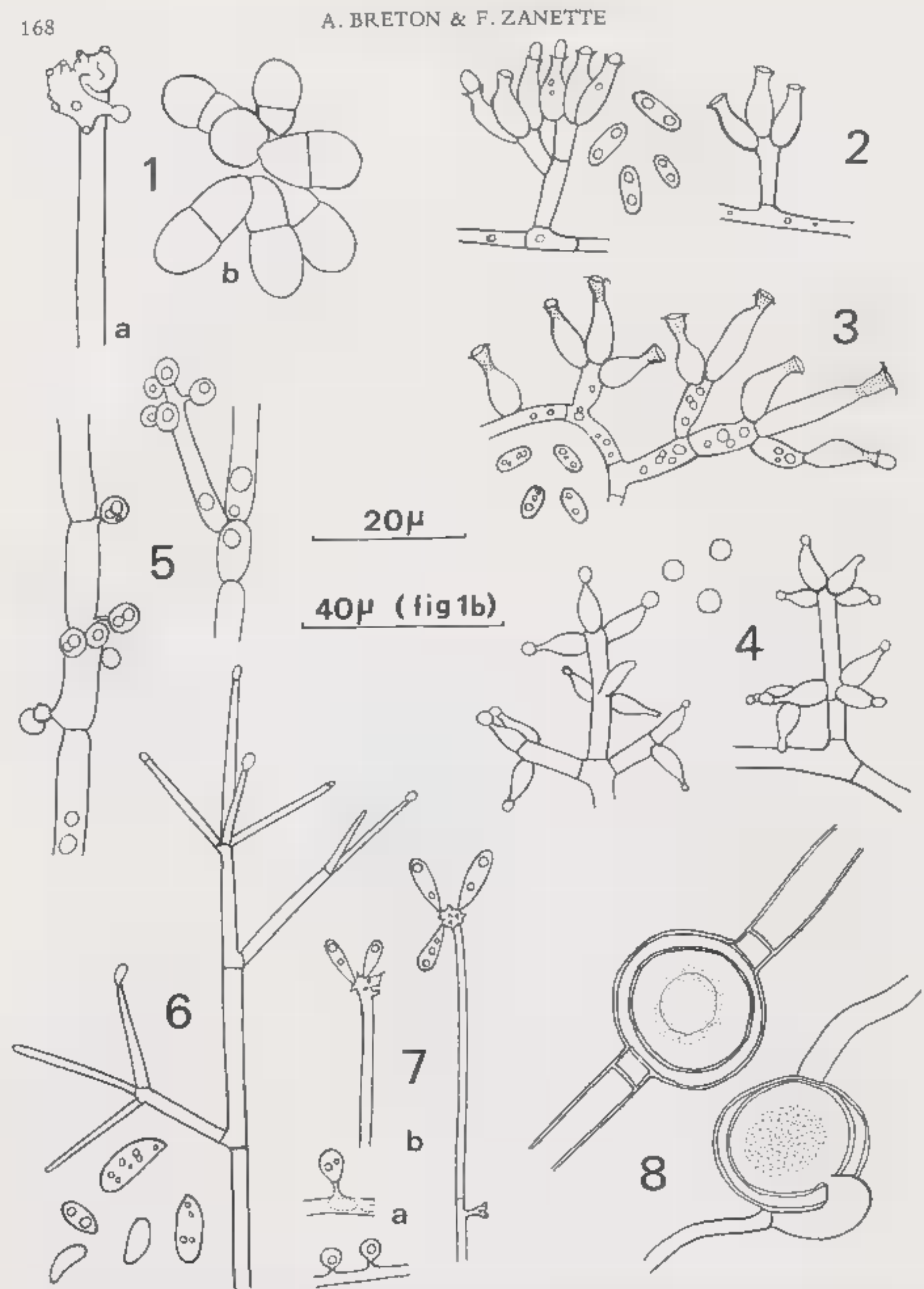
L'inventaire de la mycoflore de 32 racines saines et 41 racines présentant une pourriture brune est donnée dans le tableau I, les chiffres de ce tableau indiquant la fréquence de présence des espèces, c'est-à-dire le nombre de racines sur lesquelles elles ont été trouvées.

	racines saines	racines [redacted] décomposition
PHYCOMYCETES :		
Mortierella sp.	0	1
Mucor hiemalis Wehmer f. *corticolus* (Hagem) Schipper	1	4
Mucor racemosus Fres. f. *racemosus* Schipper	1	0
Mucor racemosus Fres. f. *sphaerosporus* (Hagem) Schipper	1	1
Pythium sp.	5	7

ASCOMYCETES :		
Chaetomium sp.	0	1
MUCEDINALES :		
Acremonium kiliense Grütz	1	0
Alternaria sp.	0	1
Arthrobotrys superba Corda	1	1
Aspergillus versicolor (Vuill.) Tir.	1	2
Botrytis cinerea Pers.	0	1
Briosia microspora (Smith) v. Arx	1	1
Cladosporium cladosporioides (Fr.) De Vries	1	2
Cylindrocarpon destructans (Zins.) Scholten	4	10
Cylindrocarpon obtusisporum (Cooke et Harkness) Wollenw.	1	2
Cylindrocarpon tenue Bugn.	1	3
Doratomyces stemonitis (Pers. ex Fries) Morton et Smith	1	1
Fusarium javanicum Koords	1	1
Fusarium oxysporum Schlecht	1	0
Fusarium solani (Mart.) Sacc.	0	2
Fusarium tabacinum (v. Beyma) Gams	15	8
Fusarium spp.	1	2
Gliocladium roseum (Link) Bainier	6	6
Paecilomyces lilacinus (Thom) Samson	0	2
Penicillium brevicompactum Diercks	5	7
Penicillium chrysogenum Thom	0	1
Penicillium expansum Link	0	1
Penicillium frequentans Westl.	0	1
Penicillium variabile Sopp.	1	2
Phialophora verrucosa Medlar	0	2
Phialophora fastigiata (Lagerb. et Melin) Conant	0	1
Sporothrix inflata de Hoog	4	3
Stilbella sp.	1	2
Trichoderma koningii Oudemans	1	2
Trichoderma viride Pers. ex S.F. Gray	5	8
SPHAEROPSIDALES :		
Coniothyrium sp.	1	0
Phoma eupyrena Sacc.	8	1
Phoma exigua Desm.	2	5
Phoma leveillei Boerema et Bollen	1	1
Phoma sp.	1	4
MYCELIA STERILIA :		
Rhizoctonia sp.	1	1
LEVURES :		
Cryptococcus albidus var. *diffluens* (Zach) Phaff et Fell.	5	7
Trichosporon beigelii (Küchemn et Rabenh.) Vuill.	1	1

Tab. I. – Inventaire de la mycoflore des racines de marcottes de pommier cultivées sur brouillard nutritif.

Pl. 1. — 1 - *Cylindrocarpon tenue* : conidiophores et conidies. 2 - *Fusarium tabacinum* : conidiophores et conidies. 3 - *Cylindrocarpon obtusisporum* : phialides et conidies. 4 - *Cylindrocarpon destructans* : a) phialides et groupe de microconidies; b) chlamydospore; c) macroconidies et microconidies.



Pl. II. — 1 - *Arthrobotrys superba* : extrémité d'un conidiophore et groupe de conidies. 2 - *Phialophora fastigiata* : conidiophores et conidies. 3 - *Phialophora verrucosa* : conidiophores et conidies. 4 - *Trichoderma viride* : structures sporifères et conidies. 5 - *Trichosporon beigelii* : mycélium et blastoconidies. 6 - *Gliocladium roseum* : conidiophore et conidies. 7 - *Sporothrix inflata* : a) blastoconidies latérales; b) conidiophores et conidies. 8 - *Pythium* sp. : a) oogone à une oosphère; b) anthéridie et oogone à une oosphère.

Les résultats montrent qu'il n'y a pas de différence entre la flore fongique des deux catégories de racines étudiées. Suivant leur fréquence, les espèces rencontrées peuvent être classées en deux catégories :

1) **Espèces assez fréquentes** qui sont essentiellement divers *Pythium*, *Cylindrocarpon destructans*, *Fusarium tabacinum (=Cephalosporiopsis imperfecta* Moreau), *Gliocladium roseum*, des *Phoma*, *Trichoderma viride* et la levure *Cryptococcus albidus* var. *diffluens* (Pl. I et II).

Aucun de ces champignons ne paraît associé de façon constante aux racines. Le plus fréquent, *Fusarium tabacinum* (Pl. I, fig. 2) n'a été trouvé que sur 23 des 73 racines étudiées; c'est l'un des hôtes les plus communs des sols cultivés (MONTEGUT et GUILLEMAT, 1956; GUILLEMAT et BIGOT, 1960; M. et Mme F. MOREAU, 1941). *Gliocladium roseum*, *Trichoderma viride*, les *Pythium* et les *Phoma* sont aussi des organismes telluriques banals.

Le *Cylindrocarpon destructans* (Pl. I, fig. 4) est quant à lui un champignon très souvent présent à la surface des racines d'un grand nombre de plantes herbacées et ligneuses. *C. destructans* et certains *Pythium* comportent des souches réputées, suivant le cas, saprophytes ou pathogènes pour le système racinaire de jeunes plantes issues de semis (VIENNOT-BOURGIN, 1949; BOOTH, 1966).

2) **Espèces peu fréquentes** qui constituent la majorité des moisissures isolées et comprennent notamment des *Fusarium* et des *Cylindrocarpon*, genres parmi les plus fréquents du sol. Compte-tenu du *C. destructans* et du *F. tabacinum* cités précédemment, *Fusarium* et *Cylindrocarpon* représentent ici environ 30 % de l'ensemble des isolats.

Soulignons enfin que ces champignons ne se cantonnent pas à une région définie de la racine mais qu'ils sont présents sur toute sa longueur.

CONCLUSIONS

La flore fongique présente sur les racines régénérées par des marcottes de pommier cultivées sur brouillard nutritif est une flore du sol typique mais appauvrie en espèces. On y trouve avec la même fréquence élevée les genres *Fusarium* et *Cylindrocarpon* dont le *F. tabacinum* qui est l'un des hôtes les plus communs de certains sols cultivés et le *C. destructans* plus spécialement inféodé dans le milieu naturel aux racines de nombreux végétaux.

Tous les champignons isolés, de racines saines et de racines présentant une pourriture brune, sont des saprophytes ou des parasites d'équilibre parmi lesquels on relève des *Pythium*, divers *Fusarium* et *Cylindrocarpon*, et des *Phoma*. Ces organismes interviennent probablement dans la décomposition des racines, avec aussi de nombreuses bactéries dont nous n'avons pas ici abordé l'étude, à la faveur d'un déséquilibre physiologique de la plante. Cette pourriture intéresse en effet le plus souvent la première vague de racines régénérées après ablation

du système racinaire des marcottes et lorsque les pousses feuillées issues du développement de la partie préformée dans les bourgeons achèvent leur croissance; elle intéresse aussi les boutures de petite taille et peu feuillées, et se manifeste plus régulièrement à 25°C qu'à 12°C ou 18°C. La première vague de racines néoformées serait donc incapable, en raison d'une résistance amoindrie, de s'opposer aux parasites d'équilibre. Cette hypothèse est renforcée par le fait que dans le même milieu, en présence des mêmes micro-organismes, les racines de la deuxième vague ne subissent aucun dommage, même si certaines d'entre elles cessent leur croissance.

BIBLIOGRAPHIE

BOOTH C., 1966 — The genus *Cylindrocarpon. Mycological Papers* n° 104, C.M.I., Kew, 56 p., 2 pl.

DOMMERGUES Y., 1975 — Pourquoi et comment développer les recherches sur la rizosphère. *Soc. bot. Fr.*, coll. Rizosphère, 7-19.

GUILLEMAT J. et MONTEGUT J., 1956 — Contribution à l'étude de la microflore fongique des sols cultivés. *Ann. Epiphyties*, 3 : 471-540.

GUILLEMAT J. et BIGOT C., 1960 — Microflore fongique d'un sol du Puy-de-Dôme et de la rhizosphère de l'ail. Incidence du traitement des cayeux contre *Sclerotium cepivorum* Berk. sur cette microflore. *Ann. Epiphyties*, 11 (2) : 217-249.

MOREAU F. et Mme, 1941 — Première contribution à l'étude de la microflore des dunes. *Rev. Myc.*, VI : 49-94.

LAMOND M., 1975 — Dispositif de culture de plantes entières en caissons sous brouillard nutritif en usage à Clermont-Ferrand. *In* : Séminaire groupe de racines, Grenoble, 21-23 octobre 1975. Grenoble, RIEDACKER A. et GAGNAIRE M.J., 2 : 6-33.

VIENNOT-BOURGIN G., 1949 — Les champignons parasites des plantes cultivées, Masson et Cie éditeurs, 2 vol., 1850 p.

ZANETTE F., 1981 — Recherches descriptives et expérimentales sur la morphogenèse des systèmes aériens [illegible] racinaires de quelques porte-greffes de pommier. Thèse de Docteur Ingénieur, Université Clermont-Ferrand II, 159 p.